昆虫表皮中碳氢化合物在昆虫分类中的应用

高明媛
（中国科学院动物研究所，北京 100080）

摘要：碳氢化合物是昆虫表皮蜡层中的主要成分，利用气相色谱技术或气谱-质谱联用技术对其进行分析，并以此为依据对昆虫进行分类鉴定，是近十几年来昆虫分类学发展的一个方面，主要用于近缘种及种下类群的研究。该文概述了这类化合物的研究方法及应用情况。

关键词：碳氢化合物；气谱-质谱；昆虫分类
中图分类号：Q966 **文献标识码**：A **文章编号**：0454-6296（2001）01-0119-04

昆虫表皮中的碳氢化合物是指存在于昆虫上表皮中的碳数为 20～50、直链或支链、饱和或不饱和的长链烃类，存在于昆虫表皮蜡层。昆虫表皮蜡层由复杂的混合物组成，包括碳氢化合物、相应链长的醇或醛、饱和或不饱和的脂肪酸及由饱和醇和饱和酸形成的酯（即蜡质），有些种类还有固醇和固醇酯。碳氢化合物是昆虫表皮蜡层中主要成分[1]。国内外研究报道，昆虫表皮碳氢化合物的组分和含量在种之间存在差异，即使在亲缘关系很近的种之间也有明显差异[2]。

1 表皮碳氢化合物的研究方法

表皮碳氢化合物通常采用昆虫整体浸泡方法提取，提取处理后利用气相色谱技术定性定量，或气谱-质谱联用进行更详细的分析。

1.1 提取

昆虫表皮中提取化合物性质稳定，提取后就可以用气相色谱仪进行分析。提取采用虫体整体浸泡在特定溶剂中的方法，虫体可选择干燥针插标本或新鲜冷冻储藏标本，虫体浸泡一段时间后，表皮中的提取化合物就可以溶于溶剂中。

用于提取的溶剂有正己烷[3~17]、氯仿[18]、石油醚[19]等，最常用的是正己烷。Jackson、Armold 和 Kegier 在研究一种麻蝇 *Sarcophage bullata* 表皮碳氢物时曾使用过氢氧化钾-己烷提取的方法[1]。

浸泡时间很重要，短时间浸泡不能完全定量提取出碳氢化合物，长时间浸泡可能会提取出体内的物质，所以必须根据虫体大小确定浸泡时间，可以对不同时间的提取物进行分析以测定提取物中何时发生了定量变化。

1.2 分析

碳氢化合物常用气相色谱仪和质谱仪进行分析。正构烷烃鉴定用色谱峰与已知标准品的

收稿日期：1998-09-29；接受日期：1999-06-24

色谱峰进行比较，或与用标准正构烷烃的碳原子数对保留时间所绘的曲线进行比较。碳氢化合物结构的分析则需用质谱仪。Jackson 等把从制备型气相色谱分离得到的样品再用质谱分析。

判断不饱和碳氢化合物的存在用涂有 $AgNO_3$ 的薄板进行薄层层析，或红外光分光仪分析。或溴化去除不饱和碳氢化合物的气相色谱分析，如果存在不饱和碳氢化合物，就可用涂有 $AgNO_3$ 的硅胶板薄层层析分离。

不饱和碳氢化合物的结构分析可用红外光分光仪测定双键的立体化学结构，双键的位置在甲基汞化-脱汞之后，由其单甲基和双甲基衍生物的 GC-MS（气谱-质谱）分析决定[16]。

2 表皮碳氢化合物在昆虫分类中的应用

1969 年 Moore 首先报道了一种白蚁 *Nasutitermes exitiosus* 的表皮碳氢化合物的组成，他发现主要的碳氢化合物是 C_{24}～C_{43}的烷属烃类。之后 Blomquist 等、Howord 等分别对 *Zootermposis* 的一个种及 *Reticultermes* 的两个种的表皮碳氢化合物组成进行了分析，发现这二者之间以及同 *N. exitiosus* 之间有很明显差异，他们认为这种差异可用于种以及其它分类阶元的识别特征[3]。

早期利用表皮碳氢化合物作分类鉴别研究多在双翅目昆虫中进行，如 Carlson 和 Service 根据表皮碳氢物中二十六碳烷、13-甲基三十一碳烷和二甲基三十九碳烷的相对丰度的差异，将冈比亚按蚊复合体 *Anopheles gambiae* species complex 中两个形态上无法辨别的近缘种 *An. gambiae* 和 *An. arabiensis* 进行了区分[4]。Carlson 和 Walsh 分析了蚋 *Simulium clamnosum* 复合体中的 2 个种，认为昆虫表皮碳氢化合物可用于种的鉴别[5]。Hoppe 等比较了虻属 *Tabanus* 三个在形态和地理分布上相似的种的表皮碳氢化合物，种间差异显著[19]。

应用气相色谱（GC）技术分析昆虫表皮碳氢物主要用于昆虫近缘种及种下类群的分类鉴别研究。除了双翅目，还对其它 7 个目也做过这方面的研究，具体如下：

（1）等翅目：Harverty 等对原白蚁属 *Zootermopsis* 群体（包括各个等级）的表皮碳氢物进行分析测定，得到了 63 个组分。根据各组分的有无、含量及统计分析结果，认为原白蚁属群体可分为四个独特的碳氢物表现型，从而对 *Zootermopsis* 属现存三个种的划分提出质疑，认为如果表皮碳氢物具有种的特异性，那么 *Zootermopsis* 应该至少有一个新种[6]。

（2）膜翅目：如 Carlson 和 Bolton 分析比较了欧洲蜜蜂和非洲蜜蜂针插保存标本与新采集的标本，认为标本的保存时间并不影响种间辨别的结果[3]。

（3）蜚蠊目：如 Carlson 和 Brenner 分析了北美地区蜚蠊属的三个近似种 *Blattella germania*、*B. asahinai* 和 *B. vaga* 在不同性别、各发育阶段及不同地理起源表皮碳氢物的变化，认为种内的差异远小于种间的差异，不影响种间的辨别[7]。

（4）直翅目：Castner 和 Nation 分析了采自不同地区的三种蝼蛄 *Scapteriscus didactylus*、*S. imitatus* 和 *S. vicinus* 的表皮，根据保留指数（KI）计算出每个种所含的直链和支链烷烃，认为种内性别间没有差异，色谱峰图形的差异显示了种间和地区间的差异，与蝼蛄的形态学和声学特征相一致[8]。

（5）鞘翅目：如 Golden 等对萤叶甲科的两个近缘种 *Diabritica lomgicirnis* 与 *D. barberi* 进行了区分[9]。

（6）半翅目：如对锥猎蝽属 *Triatoma* 中 7 个种的鉴别[13]。

（7）同翅目：对蚜虫 *Therioaphis trifolii* 表皮碳氢化合物的分析[17]。

我国在这方面的研究报道不多，崔可伦利用表皮碳氢化合物对淡色库蚊 *Culex pipiens pallens* 和致倦库蚊 *Cx*. *quinque fasciatus* 进行了鉴别，并分析了我国海南省不同地区不同季节大劣按蚊的表皮碳氢物，认为属同一种[10,11]。赵彤言等应用毛细管气谱法对我国尖音库蚊复合组尖音库蚊、淡色库蚊和致倦库蚊的表皮碳氢物进行了分析，并与该复合组分布于日本的骚扰库蚊以及亲缘种迷走库蚊进行了比较，结果表明，尖音库蚊复合组各成员碳氢物的主要组分相同，含量略有差异，与迷走库蚊相比则有显著差异，表现出了复合组的特征[12]。

此外，表皮碳氢化合物还用于系统发育关系的研究，如 Lockey 和 Metcalfe 研究了拟步甲虫 22 个种，根据表皮碳氢物各组分含量的统计分析结果，构建了 22 个种的系统发育关系树，结果支持了 Lockey 早期的工作，即碳氢化合物特征越相似的种亲缘关系越相近[16]。

近年来，利用表皮碳氢化合物鉴别幼虫的研究在国外亦有成功报道[14,20]。Sutton 等[20]对 Caribbean 与 Mediteranean 果蝇幼虫的表皮碳氢化合物进行分析，根据其中的二个主要成分区别 3 龄幼虫，准确率为 100%。同年，Anyanwu 等[14]应用气液色谱技术对所属 *Anopheles gambiae* 复合体的两个种 *An*. *gambiae* s. s. 和 *An*. *arabiensis* 的单个幼虫的表皮碳氢物特征进行分析，结果表明对这两种幼虫辨别的准确率可达 95%。

3　小结

碳氢化合物用于昆虫分类鉴定有其独特的优势。①不受实验样品的限制，干燥标本、新鲜标本或冷冻标本都可以进行分析；②整体浸泡的提取方法不损坏昆虫的外部形态，可以继续保存标本，以备将来进一步研究；③不受性别、龄期的影响，弥补了一些生化遗传方法中必须用雌性或雄性活体的缺陷；④提取液性质稳定，保留时间长短不影响实验结果；⑤实验条件较简单，费用相对较低，实验方法摸索确定后，实验周期短，有较强的实用性。

尽管昆虫表皮碳氢化合物作为一项生化特征用于昆虫分类鉴别，有不少成功的研究报道，但是，同一个种在环境食料条件、生理条件等存在差异的情况下，这一生化特征是否能保持相对的稳定？而且近似种之间是否都表现出稳定的显著差异？还需要进一步研究之后，才能对这项生化特征的应用前景做出评价。

参　考　文　献　（References）

[1]　［美国］M. 罗克斯坦编. 昆虫生物化学. 北京：科学出版社，1985. 253～276

[2]　Pennanech M. Insect hydrocarbon: analysis, structure and function. Eppc. Bulletin, 1995, 25: 343～348

[3]　Carlson D A, Bolton A B. Identification of Africanized and European honeybees using extracted hydrocarbons. Bull. Entomol. Soc. Amer., 1984, 30: 32～35

[4]　Carlson D A, Service M W. Identification of mosquitoes *Anopheles gambiae* species complex A and B by analysis of cuticular hydrocarbons. Science, 1980, 207: 1 089～1 901

[5]　Carlson D A, Walsh J F. Identification of two west African black flies (Diptera: Simuliidae) of the *Simulium clamnosum* species complex by analysis of cuticular paraffins. Acta Tropic., 1981, 38: 235～239

[6]　Haverty M I *et al*. Cuticular hydrocarbon of damp termites. *Zootermopsis* intra- and intercolong variation and potential as

taxonomic characters. J. Chem. Ecol., 1988, 14: 1 035~1 058
[7] Carlson D A, Brenner R J. Hydrocarbon-based discrimination of three North American *Blattella* cockroach species using gas chromatography. Ann. Entomol. Soc. Amer., 1988, 81 (5): 711~723
[8] Casner J L, Nation J L. Cuticular lipids for species recognition of mole crickets. Ⅰ: *Scapteriscus didactylus*, *S. imitatus* and *S. vicinus*. Fla. Entomol., 1984, 67: 155~160
[9] Golden K L *et al*. Cuticular hydrocarbon discrimination of *Diabrotica* (Coleoptera: Chrysomelidae) sibling species. Ann. Entomol. Soc. Amer., 1992, 85 (5): 561~570
[10] 崔可伦等. 应用气相色谱法鉴别海南省大劣按蚊. 中国寄生虫学与寄生病杂志, 1992, 10 (4): 283~285
[11] 崔可伦等. 应用气相色谱法鉴定淡色库蚊与致倦库蚊. 动物分类学报, 1991, 16 (3): 297~299
[12] 赵彤言等. 尖音库蚊复合组 (*Culex pipiens* complex) 生物分类学研究: 表皮碳氢化合物的气相色谱分析, 寄生虫与医学昆虫学报, 1996, 3 (1): 36~43
[13] Chen C S *et al*. Cuticular hydrocarbon patterns in *Culex quinque fasciatus* as influenced by age, sex and geography. Bull. Soc. Biol., 1990, 15: 129~139
[14] Anyanwu G I *et al*. Variation in the cuticular hydrocarbon of larvae of *Anopheles gambiae* and *A. arabiensis*. Insect Science and its Application, 1994, 15 (2): 117~112
[15] Haverty M I *et al*. Cuticular hydrocarbon of four population of *Coptotermes formosahus shiraki* in the United States. J. Chem. Ecol., 1990, 16: 1 635~1 647
[16] Lockey K H, Metcalfe N B. Cuticular comparisons of adult *Himatismus* species and a comparison with 21 other species of adult tenebrionid beetle using multivariate analysis. Comp. Biochem. Physiol. (B), 1988, 91: 371~382
[17] Sunnucks *et al*. Biological and genetic characterization of morphologically similiar *Therioaphis trifolii* (Hemiptera: Aphididae) with different host utilization. Bull. Entomol. Res., 1997, 87: 425~436
[18] Lavine B K *et al*. Classification of tephritid fruit fly larvae by gas chromatography/pattern recognition techniques. Microchemical Journal, 1992, 45 (1): 50~57
[19] Hoppe K L *et al*. Identification of horse flies (Diptera: Tabahidae) by analysis of cuticular hydrocarbon. J. Med. Entomol., 1990, 27: 480~486
[20] Sutton B D, Steck G J. Discrimination of Caribbean and Mediteranean fruit fly larvae (Diptera: Tephritidae) by cuticular hydrocarbon analysis. Florida Entomologist, 1994, 77 (2): 231~237

Application of cuticular hydrocarbon analysis to insect taxonomy

GAO Ming-yuan
(Institute of Zoology, the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China)

Abstract: The methods for studying hydrocarbons and their applications to taxonomy are reviewed. Hydrocarbons are major and abundant components of insect epicuticle, the most external layer of insect cuticle. A highly sensitive method for their characterization is gas chromatography (GC) with capillary columns and various detectors, including mass spectrometry (MS) that gives structural information directly. According to the characterization of hydrocarbons, some insects can be discriminated from their sibling species and are studied among subspecies.

Key words: cuticle; hydrocarbons; GC-MS; insect taxonomy